Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 2, June. July. 2021, p. 261- 271

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۰ ص.۲۷۱-۲۶۱

مقاله پژوهشی

تعیین ساختار، ترکیبات و ویژگی‌های شیمیایی، فعالیت ضداکسایشی و اثر سیتوتوکسیک اسانس زردچوبه

بهاره مجدی[۱]- محمدامین مهرنیا[۲]*- حسن برزگر[۳]- بهروز علیزاده بهبهانی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۱

چکیده

هدف از این پژوهش شناسایی ترکیبات، ساختار و تشخیص کیفی نوع پیوندها، فعالیت ضداکسایشی، تعیین فنول و فلاونوئید کل و اثر سیتوتوکسیک اسانس زردچوبه بود. اسانس زردچوبه با دستگاه کلونجر و با روش تقطیر آبی استخراج شد. ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه با دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی شناسایی شد. برای تعیین گروه‌های عاملی ترکیبات شیمیایی و شناسایی کیفی اسانس زردچوبه از آنالیز طیف‌سنجی تغییر شکل فروسرخ فوریه در محدوده طول موج cm^{-1} ۴۰۰۰-۵۰۰ استفاده شد. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس زردچوبه با مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH و ABTS) و رنگبری بتاکاروتن لینولئیک اسید تعیین گردید. مقدار فنول کل و فلاونوئید با روش‌های رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. از روش MTT جهت تعیین اثر سیتوتوکسیک غلظت‌های مختلف اسانس زردچوبه بر رده سلولی سرطان روده بزرگ (HT29) استفاده شد. ۱۸ ترکیب شناسایی شده در اسانس زردچوبه ۹۷/۹۱ درصد ترکیبات را تشکیل دادند. Turmerone با ۴۰٪ بیشترین ترکیب شناسایی شده در اسانس زردچوبه بود. محدوده عدد موجی cm^{-1} ۳۶۰۰-۳۴۰۰ (به‌ویژه عدد موجی cm^{-1} ۳۵۱۶) و پیک‌های cm^{-1} ۲۹۳۰، ۱۶۲۱، ۱۵۱۵ و ۱۴۴۷ به‌ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی پیوندهای O-H، C-H، C=O و C=C حلقه آروماتیک و گروه‌های آروماتیک کورکومینوئیدها است. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس زردچوبه به روش‌های DPPH، ABTS و رنگبری بتاکاروتن لینولئیک اسید به‌ترتیب ۲۵/۱۵، ۹۳/۹۰ و ۷۲/۷۶ درصد بود. فنول کل و فلاونوئید کل اسانس زردچوبه به‌ترتیب ۳۸/۹۱ mg GAE/g و ۸۷/۹ mg QE/g بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس زردچوبه از ۳/۱۲۵ mg/mL به ۲۰۰ میزان زنده‌مانی سلول HT29 به‌ترتیب از ۶۶/۷۶ به ۹/۸۸ درصد تغییر پیدا کرد.

واژه‌های کلیدی: اسانس زردچوبه، کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی، طیف‌سنجی تغییر شکل فروسرخ فوریه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

مقدمه

عصاره و اسانس‌های گیاهان با داشتن ترکیباتی فنولی زیست فعال نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا کنند (سلطانی‌پور و همکاران، ۱۳۸۳؛ صادقی و همکاران، ۱۳۹۴). آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها باعث به تأخیر انداختن فساد، تغییر رنگ یا تند شدن مواد غذایی می‌شوند. به دلیل اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند سرطان‌زایی و آسیب کبدی، امروز استقبال و تمایل مصرف‌کنندگان از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی رو به افزایش است. در برخی از پژوهش‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در گیاهان را مرتبط با ترکیبات فنولی دانسته‌اند (مزارعی و همکاران، ۱۳۹۶).

زردچوبه یا زرچوبه یا زرده چال با نام علمی *Curcuma longa* به انگلیسی Turmeric، به عربی عروق الصفر یا حشیشه الصفرا و به هندی هلدی[۴] نامیده می‌شود. زردچوبه از رده زنجبیل‌وارها[۵]، راسته زنجبیل‌ها[۶]، تیره زنجبیلیان[۷]، گونه زردچوبه‌ای‌ها[۸] است. از فواید زردچوبه می‌توان به اثر آنتی‌اکسیدانی آن اشاره کرد که به دلیل وجود کورکومین[۹] است. کورکومین از مهمترین کورکومینوئیدها[۱۰] است و از مواد تشکیل‌دهنده زردچوبه است. علاوه بر کورکومین ترکیبات فنولی

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
(*-نویسنده مسئول: Email: Mehrnia@asnrukh.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v17i2.85943

4 Haldi
5 Liliopsida
6 Zingiberales
7 Zingiberaceae
8 Curcuma
9 Curcumin
10 Curcuminoids

زردچوبه که حاوی اسید فرولیک[1] و اسید پروتو کاتکوئیک[2] هستند، بر پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی آن می‌افزایند (Kumar *et al*., 2006). زردچوبه با کاهش تشکیل کلامپ‌های خونی به پیشگیری از تصلب شرائین[3] کمک کرده و می‌تواند رشد *هلیکوباکترپیلوری* (عامل زخم معده و مرتبط با سرطان معده) را کاهش دهد. فعالیت شلاته کنندگی ترکیبات فنولی آن باعث کاهش اثرات سمی این فلزات در بدن شده و می‌توانند اثر محافظتی برای مغز داشته باشد (فلاح حسینی، ۱۳۸۸).

یکی از سرطان‌های شایع در کشورهای صنعتی توسعه یافته که باعث مرگ و میر می‌شود سرطان دستگاه گوارشی به‌ویژه سرطان قسمت‌های تحتانی دستگاه گوارشی، سرطان روده بزرگ یا سرطان کولون[4] می‌باشد که با نام سرطان کولورکتوم[5] نیز شناخته شده و به اختصار با CRC نشان داده می‌شود. سرطان کولون که یک سرطان تهاجمی است که در آن پاتولوژیک اپیتلیوم نرمال[6] به پولیپ آدنوماتوز[7] تبدیل می‌شود (قاضی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۶). ویژگی‌های اپیدمیولوژیک سرطان کولورکتال و همچنین میزان بروز سالیانه آن در نقاط مختلف دنیا متفاوت است. این بیماری بین ۳ تا ۷ مورد در ۱۰۰۰۰۰ نفر در کشورهای خاورمیانه و در حدود ۳۰ تا۵۰ مورد در ۱۰۰۰۰۰ نفر در شمال آمریکا و اروپا گزارش گردیده است. بروز این بیماری در ایران نسبت به کشورهای غربی کم‌تر است. میزان بروز این بیماری در بین مردان مقام پنجم و در بین زنان مقام سوم در میان کل سرطان‌ها است (آخوند و همکاران، ۱۳۸۹). سرطان کولون به دو نوع طبقه‌بندی می‌شود. دسته اول طبقه‌بندی Dukes که شامل چهار طبقه فرعی A، B، C1، C2 و D است که در کشورهای آمریکا و انگلستان رایج است. دسته دوم طبقه‌بندی TNM است که از نظر مولکولی شامل ۹ طبقه فرعی است (قاضی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۶).

Kim و همکاران (۲۰۱۰) اثر زردچوبه را بر سلول‌های HCT-116 بررسی کردند و گزارش کردند که اثر زردچوبه روی این سلول‌ها وابسته به زمان است. Cao و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر کورکومین، یکی از مؤلفه‌های فعال جدا شده از ریزوم‌های زردچوبه، بر سمیت سه رده سلولی سرطان انسانی (AGS، HT29 و MGC803) در دستگاه گوارش و یک سلول طبیعی اپیتلیال معده GES-1، گزارش کردند.

Rouhollahi و همکاران (۲۰۱۵) اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های هگزان و دی کلرومتان ریزوم زردچوبه را بر ۴ رده سلولی سرطانی انسان مورد تایید قرار دادند.

هدف از این پژوهش، شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی، تعیین گروه‌های عاملی ترکیبات شیمیایی و تشخیص کیفی نوع پیوندها با طیف‌سنجی تغییر شکل فروسرخ فوریه، تعیین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی با مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH و ABTS) و رنگبری بتاکاروتن لینولئیک اسید، تعیین میزان فنول و فلاونوئید کل با روش‌های رنگ‌سنجی و اثر سیتوتوکسیک آن بر رده سلولی سرطان روده بزرگ (HT29) بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری زردچوبه و استخراج اسانس آن

ریشه خشک شده زردچوبه از شهرستان اهواز (استان خوزستان) از عطاری محلی خریداری شد و جنس و گونه آن تعیین گردید. اسانس زردچوبه با دستگاه کلونجر و با روش تقطیر آبی استخراج گردید (Alizadeh Behbahani and Imani Fooladi., 2018).

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس با دستگاه کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی

جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent Technologies 7890A، آمریکا) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (Agilent Technologies 5975C، آمریکا) استفاده شد. ۱ µl اسانس زردچوبه به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. دمای ستون با سرعت ۳°C/min از ۴۵°C به ۲۱۰°C افزایش یافت. ستون دستگاه (Agilent Technologies Inc., HP-5 MS، آمریکا) از نوع مویینه با طول ۳۰m ، قطر داخلی ۰/۲۵ mm و ضخامت ۰/۲۵ µm بود. پس از انجام تزریق اسانس به دستگاه و به‌دست آوردن کروماتوگرام، شناسایی و تعیین مقدار هر یک از ترکیبات با استفاده از طیف جرمی استاندارد مشخص گردید (Barzegar *et al*., 2019).

طیف‌سنجی تغییر شکل فروسرخ فوریه (FTIR[8])

این آزمون مطابق با مطالعه Alizadeh Behbahani و همکاران (۲۰۱۹)، انجام شد. در این آزمون که هدف آن تعیین گروه‌های عاملی ترکیبات شیمیایی و شناسایی کیفی اسانس زردچوبه بود از آنالیز طیف‌سنجی تغییر شکل فروسرخ فوریه (Thermo Nicolet، Avatar 370، آمریکا) استفاده شد. طیف FTIR از اسانس زردچوبه در محدوده طول موج cm^{-1} ۴۰۰۰–۵۰۰ ثبت گردید.

1 Ferulic
2 Protocatechuic
3 Atherosclerosis
4 Colon cancer
5 Colorectal cancer
6 Normal epithelium
7 Adenomatous polyp
8 Fourier-transform infrared spectroscopy

اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زردچوبه مطابق با مطالعه نوشاد و همکاران (۱۳۹۷)، انجام پذیرفت. به‌طور خلاصه در این آزمون ۱ ml از اسانس زردچوبه با ۳ mL از محلول DPPH در متانول، مخلوط گردید. سپس به مدت ۳۰ min محلول در دمای اتاق (۲۵°C) و تاریکی قرار داده شد (اطراف ظروف شیشه‌ای با فویل آلومینیمی به‌طور کامل پوشانده شده بود). در نهایت میزان جذب نمونه‌های اسانس زردچوبه و نمونه شاهد (متانول) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ nm خوانده شد. با جای‌گذاری اعداد به‌دست آمده از جذب نمونه‌ها در معادله ۱، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر حسب درصد بازدارندگی به دست آمد.

درصد بازدارندگی=[($A_{شاهد}-A_{نمونه}$) / $A_{شاهد}$]×۱۰۰ (۱)

اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS

برای اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS ابتدا رادیکال ABTS تهیه شد. بدین صورت که ابتدا یک محلول آبی از ABTS به غلظت ۷ mM تهیه شده و به این محلول، پتاسیم پرسولفات اضافه گردید تا غلظت نهایی آن به ۲/۴۵ mM در محلول رسید. محلول حاصل در دمای اتاق و تاریکی به مدت ۱۶ h قرار داده شد. قبل از استفاده از کاتیون رادیکال $ABTS^{+}$ لازم است رقیق‌سازی تا حدی انجام گیرد که جذب معرف در طول موج ۷۳۴ nm در محدوده جذبی ۰/۰۲ ± ۰/۷ باشد. در انتها ۳۰ µl از نمونه به ۳ mL از محلول رادیکال ABTS اضافه شد و پس از گذشت ۶ min جذب آن ثبت گردید (امیدی‌میرزائی و همکاران، ۱۳۹۹).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش رنگ‌بری بتاکاروتن- لینولئیک اسید

این روش مطابق با مطالعه Gursoy و همکاران (۲۰۰۹)، انجام شد. در این روش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس زردچوبه با استفاده از میزان مقاومت در برابر اکسیداسیون لینولئیک اسید و تغییر رنگ بتاکاروتن توسط رادیکال‌های آزاد ارزیابی می‌شود.

تعیین مقدار فنول کل اسانس زردچوبه

این آزمون مطابق با روش سینگلتون و رسی (۱۹۹۵)، انجام شد. به طور خلاصه ابتدا ۱ ml نمونه اسانس زردچوبه با ۲/۵ ml محلول فنول مخلوط کرده و به مدت ۶ min در تاریکی نگه داشته شد. سپس ۲/۵ml کربنات سدیم ۷٪ اضافه شده و بعد از گذشت ۶۰ min میزان جذب این محلول در طول موج ۷۲۵ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. نتایج به‌دست آمده با منحنی استاندارد اسید گالیک مقایسه و مقادیر فنول کل موجود در اسانس بر حسب mg gallic acid equivalent (GAE)/g گزارش شد.

تعیین مقدار فلاونوئید کل اسانس زردچوبه

تعیین میزان فلاونوئید کل اسانس زردچوبه مطابق با مطالعه Chang و همکاران (۲۰۰۲)، با اندکی اصلاحات انجام پذیرفت. ۱/۲۵ ml آب مقطر با ۱ ml اسانس زردچوبه مخلوط شد. در ادامه ۷۵ µl محلول نیتریت سدیم نیز اضافه شد. پس از ۶ min، محلول آلومنیوم تری کلرید اضافه شد و در دمای اتاق به مدت ۶ min نگهداری شد. در نهایت ۱ ml سود به محلول اضافه شد و جذب آن در طول موج ۵۱۰ nm خوانده شد. مقادیر فلاونوئید کل اسانس زردچوبه بر حسب mg quercetin equivalent (QE)/g گزارش شد.

اثر سیتوتوکسیک اسانس زردچوبه بر رده سلولی سرطان روده بزرگ (HT29)

از روش MTT مطابق با مطالعه تناور و همکاران (۱۳۹۹)، جهت تعیین اثر سیتوتوکسیک غلظت‌های مختلف اسانس زردچوبه بر رده سلولی سرطان روده بزرگ (HT29) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده از آزمون‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شد. جهت مقایسه میانگین داده‌های به‌دست آمده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از نرم‌افزارSPSS (نسخه ۱۸) استفاده شد. حداقل تکرار برای آزمون‌ها ۳ مرتبه بود.

نتایج و بحث

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه

نتایج شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه با استفاده از کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی در جدول ۱، آورده شده است. ۱۸ ترکیب شناسایی شده در اسانس زردچوبه ۹۷/۹۱ ٪ ترکیبات را تشکیل دادند. Turmerone با ۴۰٪ بیشترین ترکیب شناسایی شده در اسانس زردچوبه بود. ترکیبات اصلی دیگر شامل Zingiberene ،Curlone و Benzene که هر کدام به‌ترتیب ۳۴٪، ۸/۳۰٪ و ۴/۱۸٪ بود. مقایسه نتایج پژوهش حاضر با مطالعات قبلی تا حدودی مشابه بود. به‌طور مثال Stanojević و همکاران (۲۰۱۵)، گزارش کردند که بازده اسانس زردچوبه ۰/۳٪ بود. این پژوهشگران همچنین بیان کردند که عمده‌ترین ترکیبات اسانس زردچوبه به ترتیب شامل از α- Turmerone (۲۲/۷٪)، Turmerone (۲۶٪) و Curlone (۱۶/۸٪) بود. در پژوهش ما میزان بازده استحصالی اسانس ۱٪ بود. شاید بتوان دلیل این امر را به روش‌های متفاوت استخراج اسانس، سن گیاه، شرایط اقلیمی و ... مرتبط دانست (طباطبایی یزدی و همکاران، ۱۳۹۸). ترکیبات شناسایی شده تا حدود زیادی مشابه با یافته‌های ما بود. Negi و همکاران (۱۹۹۹)، گزارش کردند که

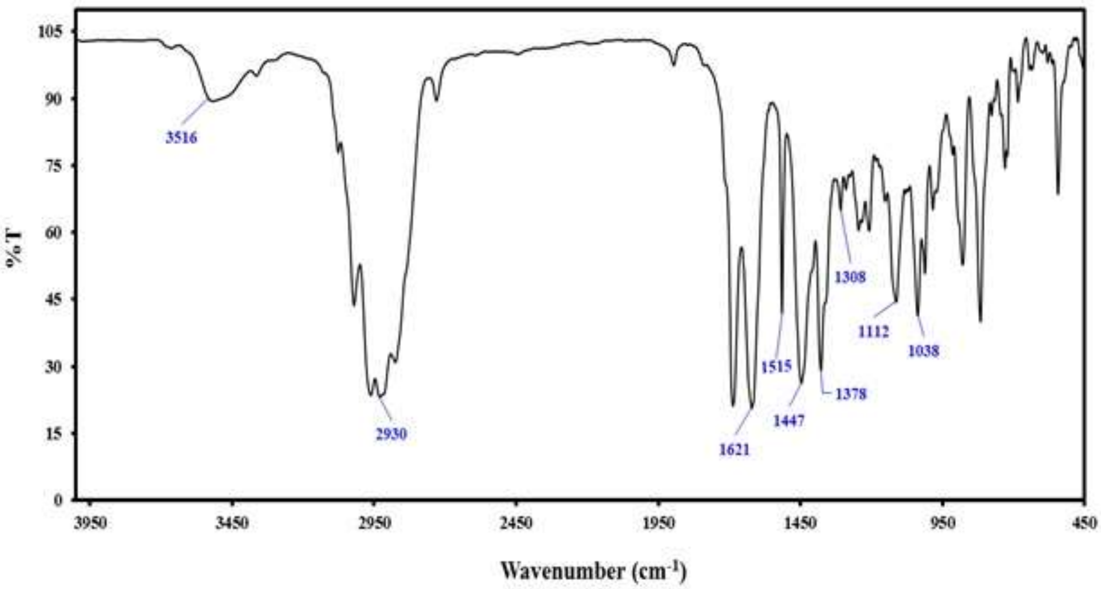
α-Turmerone (٪۶۲)، Tans-â-farnesene (٪۶/۶)، Turmerone (٪۵/۱) و Curlone (٪۳/۹) ترکیبات اصلی روغن زردچوبه هستند. در مطالعه ما نیز ترکیبات Turmerone و Curlone دو ترکیب اصلی تشکیل دهنده اسانس زردچوبه بودند. پس می‌توان بیان کرد که نتایج این پژوهشگران در مورد نوع ترکیبات شناسایی شده شبیه بود اما در مورد درصد میزان ترکیبات تفاوت‌هایی مشاهده شد. برزگر و همکاران (۱۳۹۸)، دلیل این امر را به شرایط فیزیولوژیکی گیاه، نوع خاک، زمان برداشت گیاه، روش خشک کردن گیاه و ... نسبت دادند. Singh و همکاران (۲۰۱۰) ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه را با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی مورد شناسایی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که ترکیبات Turmerone (٪۲۴/۴)، α-Turmerone (٪۲۰/۵) و β-Turmerone (٪۱۱/۱) جز اصلی تشکیل‌دهنده زردچوبه بود. یافته‌های این پژوهشگران با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت. Naz و همکاران (۲۰۱۰) ترکیبات شیمیایی زردچوبه را مورد شناسایی قرار دادند. این پژوهشگران ۱۶ ترکیب را در اسانس زردچوبه شناسایی کردند. ترکیبات اصلی زردچوبه شامل Turmerone و Curlone بود. نتایج این محققین با یافته‌های ما مطابقت داشت. Lee و همکاران (۲۰۱۱) اجزای اسانس زردچوبه را مورد شناسایی قرار دادند. این پژوهشگران گزارش کردند که اجزای اصلی اسانس شامل α- Turmerone (٪۳۵/۵۹)، Germacrone (٪۱۹/۰۲)، α-Zingiberene (٪۸/۷۴) بود. در پژوهش ما نیز Zingiberene با ٪۸/۳۰ یکی از ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس زردچوبه بود. نتیجه آنالیز اسانس زردچوبه توسط دستگاه کرماتوگرافی گازی در مطالعه سمیعی و همکاران (۱۳۹۷)، نشان داد که ۲۷ ترکیب شناسایی شده در مجموع ٪۹۹/۶۹ ترکیبات اسانس را تشکیل می‌دهد. عمده‌ترین ترکیب اسانس زردچوبه β-Turmerone (٪۳۴/۴۲) بود. سایر ترکیبات شامل α-Turmerone (٪۱۱/۴)، Sesquiphellandrene (٪۱۰/۶۱)، Zingiberene (٪۹/۲۱)، Turmerone (٪۸/۵۱) و trans-Caryophyllene (٪۷/۸۶) بود. نتایج این پژوهشگران تا حدودی با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی داشت.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی

شماره	نام ترکیبات تشکیل‌دهنده	زمان بازداری (دقیقه)	درصد
۱	α-Pinene	۳/۳۴	۱/۵
۲	α-Phellandrene	۴/۳۲	۱/۴۳
۳	Limonene	۴/۷۲	۰/۲
٤	Eucalyptol	۴/۷۹	۱
۵	Terpinolene	۵/۸۳	۰/۲۶
٦	Terpinen-4-ol	۷/۸۰	۰/۰۸
۷	Benzenemethanol	۸	۰/۱۲
۸	Terpineol	۸/۱۱	۰/۱۴
۹	Anethole	۱۰/۳۸	۰/۳۱
۱۰	Phenol	۱۰/۵۹	۰/۱۸
۱۱	Caryophyllene	۱۳/۶۸	۱/۷
۱۲	Humulene	۱۴/۴۸	۰/۷
۱۳	Benzene	۱۵/۱۸	۴/۱۸
۱٤	Zingiberene	۱۵/۲۹	۸/۳۰
۱۵	Cyclohexadiene	۱۵/۴۶	۲/۹
۱٦	β-Bisabolene	۱۶/۲۵	۰/۹۱
۱۷	Tumerone	۱۷/۳۷	۴۰
۱۸	Curlone	۱۸/۷۷	۳۴
کل			۹۷/۹۱

تعیین گروه‌های عاملی ترکیبات شیمیایی و تشخیص کیفی نوع پیوندها

طیف FTIR اسانس زردچوبه در شکل ۱، نشان داده شده است. محدوده عدد موجی cm^{-1} ۳۴۰۰–۳۶۰۰ (به‌ویژه عدد موجی cm^{-1} ۳۵۱۶) و پیک‌های cm^{-1} ۲۹۳۰، ۱۶۲۱، ۱۵۱۵ و ۱۴۴۷ به‌ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی پیوندهای O-H، C-H، C=O و C=C حلقه آروماتیک و گروه‌های آروماتیک کورکومینوئیدها[1] می‌باشند (Karimi *et al*., 2018; Pawar *et al*., 2015; Yadav *et al*., 2017). پیک در cm^{-1} ۱۵۱۵ ممکن است ناشی از ارتعاش کششی پیوند C=O سسکوئی‌ترپن‌ها[2] (ترمرون[3]) باشد. علاوه بر این، پیک‌های cm^{-1} ۱۳۷۸ و ۱۳۰۸ نیز حضور آلکان‌ها یا ارتعاش خمشی گروه CH_3 کورکومینوئیدها (کورکومین) را تائید کرد (Khanam., 2018). پیک‌های مشاهده شده در cm^{-1} ۱۰۳۸ و ۱۱۱۲ احتمالاً ناشی از ارتعاش کششی پیوند C-O-C بود (Khanam., 2018). به‌طور کلی، محدوده عدد موجی cm^{-1} ۱۶۰۰–۱۶۲۶ و cm^{-1} ۱۵۱۰–۱۵۴۵ به‌ترتیب به ارتعاش کششی پیوندهای C=O و C-O حلقه آروماتیک نسبت داده شده است (Chowdhury *et al*., 2000) و این پیک‌های شاخص مؤید حضور گروه‌های عملکردی و ترکیبات زیست فعال در اسانس زردچوبه بود. Karimi و همکاران (۲۰۱۸) طیف FTIR زردچوبه را مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که باند در طول موج cm^{-1} ۳۴۳۰ به یک ارتعاش پیوند باند آزاد OH و در طول موج cm^{-1} ۱۵۱۳، cm^{-1} ۱۴۵۰ و cm^{-1} ۱۵۸۰ مربوط به گروه‌های معطر بود. Araujo و همکاران (۲۰۱۶) به تجزیه و تحلیل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و فوتوفیزیکی اسانس زردچوبه پرداختند. این پژوهشگران از طیف سنجی FTIR، به‌عنوان یک ابزار تحلیلی مؤثر برای تشخیص گروه‌های عملکردی و مشخص کردن پیوند کووالانسی استفاده کردند. نتایج طیف FTIR حاکی از آن بود که استخراج اسانس از ریزوم باعث کاهش قابل توجهی در باندهای گسترده قوی بین cm^{-1} ۳۱۰۰ و ۲۹۰۰ می‌گردد. این باندها به گروه‌های هیدروکسیل پیوندی (OH-) یا آمین (NH-) و آلیفاتیک C—H زردچوبه نسبت داده شد.



شکل ۱- طیف FTIR اسانس زردچوبه.

ویژگی‌های شیمیایی و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس زردچوبه

در جدول ۲، نتایج فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زردچوبه به ۳ روش مهار رادیکال DPPH، ABTS و رنگبری بتاکاروتن–لینولئیک اسید آورده شده است. نتایج نشان داد که اسانس زردچوبه از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی خوبی برخوردار است. مقدار فنول تام موجود در اسانس زردچوبه که یک ترکیب فنولی خالص می‌باشد، بر حسب گالیک اسید از روی منحنی استاندارد آن به روش فولین سیوکالتو محاسبه شد (۳۸/۹۱ mg GAE/g). Nampoothiri و همکاران (۲۰۱۲) محتوای پلی‌فنولی زردچوبه را بر حسب گالیک اسید ۲۰٪

---

1 Curcuminoids
2 sesquiterpenes
3 turmerone

گزارش کردند (۲۲). سمیعی و همکاران (۱۳۹۷ b) توانایی مهار رادیکال آزاد اسانس زرچوبه را با روش DPPH، ۱۸٪ گزارش کردند. Stanojevićو همکاران (۲۰۱۵)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن زردچوبه را با استفاده از رادیکال DPPH تعیین کردند. این پژوهشگران درصد مهارکنندگی روغن زردچوبه را ۹۲٪ گزارش کردند. Maizura و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل زردچوبه را به‌ترتیب ۶۴/۶٪ و ۶۷/۸۹ mg GAE/g گزارش کردند. یافته‌های این پژوهشگران با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. Akinola Alafiatayo و همکاران (۲۰۱۴) ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دو گونه زردچوبه (*Curcuma longa* و*Curcuma xanthorrhiza*) رشد یافته در جنوب شرق آسیا را با روش‌های DPPH و FRAP[1]، مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران همچنین میزان فنول کل و فلاونوئید زردچوبه را نیز تعیین کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی زردچوبه (*Curcuma longa*) به روش‌های DPPH و FRAP به‌ترتیب ۲۷۰/۱ mg TE[2]/g و ۲۳۱/۷ mg TE/g بود. میزان فنول کل و فلاونوئید نیز به‌ترتیب ۴۲/۷ mg GAE/g و ۹۰٪ گزارش شد. Singh و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که روغن اسانس ریزوم تازه زردچوبه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به ریزوم خشک شده است. این پژوهشگران همچنین گزارش کردند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی زردچوبه نسبت به آنتی‌اکسیدان BHA[3] قوی‌تر بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی زردچوبه در برابر رادیکال DPPH در محدوده ۸۶-۹۲٪ گزارش شد. Karimi و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که زردچوبه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است. Li و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو گونه زردچوبه را مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران بیان کردند که زردچوبه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی است. Sahu و Saxena (۲۰۱۳) فلاونوئید کل عصاره‌های مختلف زردچوبه را تعیین کردند. این محققین گزارش کردند که میزان فلاونوئید کل عصاره بین ۲۲/۲۵ mg/g تا ۷۹/۳۶ متغیر بود. حداکثر مقدار فلاونوئید کل در عصاره متانولی زردچوبه مشاهده شد. طبق مقایسه نتایج مطالعات مختلف، تفاوت‌هایی در مقدار ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد. این تفاوت‌ها به عواملی مانند شرایط اقلیمی از جمله آب، هوا، خاک و ارتفاع که در رشد گیاهان دارویی مؤثر است، بستگی دارد. همچنین می‌توان به عوامل دیگری همانند روش‌های متنوع اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها نیز اشاره کرد (برزگر و همکاران، ۱۳۹۷).

جدول ۲- محتوای فنول کل ، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زردچوبه

	فنول (mg GAE/g)	فلاونوئید (mg QE/g)	فعالیت آنتی اکسیدانی (٪)		
			مهار رادیکال DPPH	مهار رادیکال ABTS	بتاکاروتن لینولئیک اسید
اسانس زردچوبه	۳۸/۹۱±۰/۴۴	۸۷/۹۰±۰/۶۳	۲۵/۱۵±۰/۸۳	۹۳/۹۰±۰/۵۵	۰/۸۸±۷۲/ ۷۶

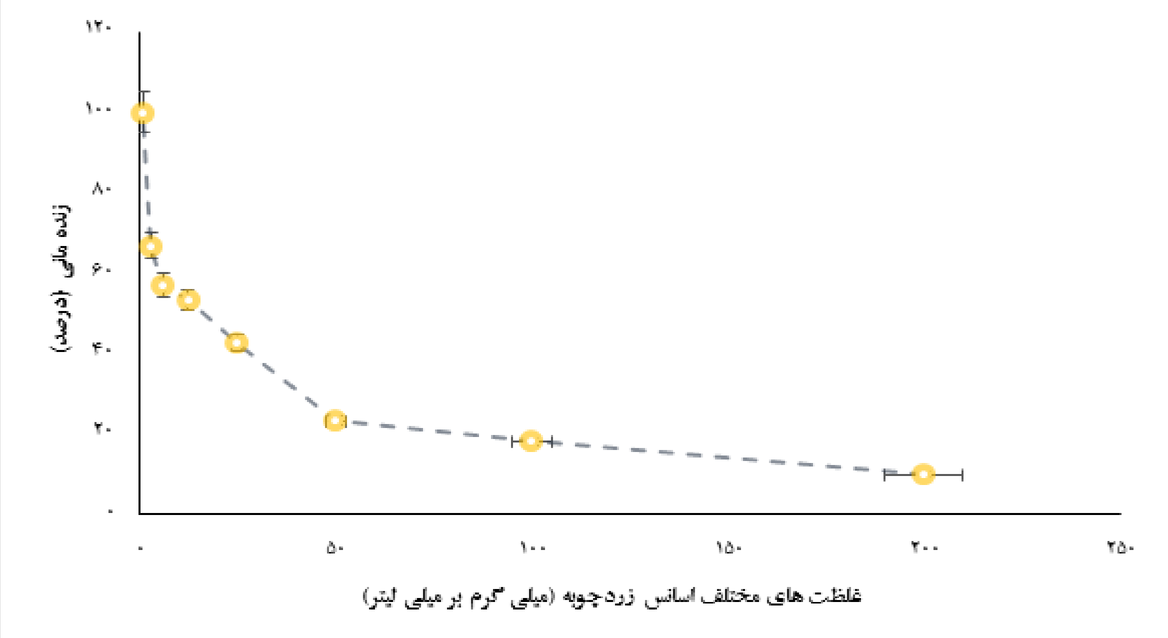
اثر سیتوتوکسیک اسانس زردچوبه بر رده سلولی سرطان روده بزرگ (HT29)

شکل ۲، اثر سیتوتوکسیک اسانس زردچوبه را بر رده سلولی سرطان روده بزرگ (HT29) نشان می‌دهد. همانگونه که در شکل ۲، مشخص است با افزایش غلظت اسانس زردچوبه از ۳/۱۲۵ mg/mL به ۲۰۰ تاثیر اسانس زردچوبه بر رده سلولی HT29 به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. درصد زنده‌مانی سلول HT29 در غلظت‌های ۳/۱۲۵ و ۲۰۰ mg/mL به‌ترتیب ۶۶/۷۶ و ۹/۸۸ بود.

Kim و همکاران (۲۰۱۰) اثر زردچوبه را بر زنده بودن سلول‌های HCT-116 مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که اثر زردچوبه روی زنده بودن این سلول‌ها وابسته به زمان است. این پژوهشگران سلول‌های HCT-116 را با زردچوبه به مدت ۱۲ h و به دنبال آن با کپسیتابین[4]و تاکسول (پاکلیتاکسل[5]) به مدت ۲۴ ساعت درمان کرده و سپس با استفاده از روش زنده و مرده، یکپارچگی غشای را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که زردچوبه، کپسیتابین و تاکسول به تنهایی در دوز مورد بررسی، باعث مرگ حداقل در سلول‌های سرطانی شدند. با این حال، هنگامی که سلول‌ها با زردچوبه تحت درمان قرار گرفتند، آپوپتوز[6] ناشی از کپسیتابین از ۵٪ به ۵۲٪ افزایش یافت. آپوپتوز ناشی از تاکسول از ۴٪ به ۴۵٪ افزایش یافت. این نتایج نشان‌دهنده تعامل هم‌افزایی بین زردچوبه و شیمی درمانی بود. Rouhollahi و همکاران (۲۰۱۵) اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های هگزان و دی کلرومتان ریزوم گونه‌ای از زردچوبه را بر ۴ رده سلولی سرطانی انسان پس از ۲۴ h با استفاده از روش MTT بررسی کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که عصاره‌های هگزان و دی‌کلرومتان دامنه گسترده‌ای از اثر سمیت سلولی را نسبت به سلول‌های سرطانی نشان دادند. نتایج نشان داد

1 Ferric reducing ability of plasma
2 Trolox equivalents
3 Butylated hydroxyanisole
4 Capecitabine
5 Paclitaxel
6 Apoptosis

که IC_{50} بر رده سلولی سرطانی روده بزرگ (HT29) ۰/۵۴ ± ۷/۷۹ µg/mL بود. این پژوهشگران همچنین ایمن بودن این گیاه را بر سلول‌های طبیعی انسان تایید کردند. در مطالعه Cao و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر کورکومین، یکی از مؤلفه‌های فعال جدا شده از ریزوم‌های زردچوبه، بر سمیت سه رده سلولی سرطان انسانی (AGS، HT29 و MGC803) در دستگاه گوارش و یک سلول طبیعی اپیتلیال معده GES-1، و مکانیسم آپوپتوز ناشی از کورکومین بررسی کردند. نتایج نشان داد که مهار رشد سلول‌های سرطان معده وابسته به دوز بوده و اثر سمیت بیشتر کورکومین بر سلول‌های AGS و HT29 در مقایسه با سلول‌های GES-1 بیشتر بود. Malek و همکاران (۲۰۱۱) اثر سمیت سلولی متانول خام و عصاره‌های استخراج شده (هگزان و اتیل استات) گونه‌ای از زردچوبه را در برابر شش رده سلولی سرطانی انسان (سلول پستان وابسته به هورمون (MCF 7)، رده سلولی اپیدرموئید نازوفارنکس (KB)، رده سلولی ریه (A549)، رده سلولی دهانه رحم (Ca Ski)، رده سلولی کولون (HT29) و HCT 116) و یک رده سلولی فیبروبلاست انسانی غیرسرطانی (MRC 5) با استفاده از روش سمیت سلولی قرمز خنثی[1] بررسی کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که متانول خام و عصاره‌های استخراج شده (هگزان و اتیل استات) اثر سمیت سلولی خوبی را در برابر سلول‌های MCF 7، KB، A549، Ca Ski و HT29 نشان داده اما هیچ سمیتی بر MRC 5 مشاهده نشد. Singh و همکاران (۲۰۰۹)، نحوه عملکرد کورکومین به‌عنوان یک ماده ضدسرطان و بررسی اثر آن بر تکثیر و القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی روده بزرگ انسانی HT29 را مورد ارزیابی قرار دادند.این پژوهشگران اثر کورکومین را مثبت گزارش کردند. Goel و همکاران (۲۰۰۱) دریافتند که کورکومین، رنگدانه اصلی و مؤلفه فعال زردچوبه، دارای فعالیت‌های ضدالتهابی و ضدسرطان است. سیکلواکسیژناز 2-(COX) نقش مهمی در سرطان روده بزرگ دارد. این پژوهشگران برای بررسی اثر کورکومین در بیان 2-(COX)، سلول‌های سرطانی روده بزرگ HT29 را با غلظت‌های مختلف کورکومین درمان کردند. نتایج نشان داد که اثر کورکومین بر رشد سلول‌های HT29 وابسته به غلظت و زمان است.



شکل ۲- اثر سیتوتوکسیک اسانس زردچوبه بر رده سلولی سرطان روده بزرگ (HT29).

نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زردچوبه به روش‌های مختلفی DPPH، ABTS و رنگبری بتاکاروتن لینولیئک اسید نشان داد که اسانس زردچوبه از پتانسیل بالای آنتی‌اکسیدانی برخوردار است. میزان ترکیبات فنولی موجود در زردچوبه ۳۸/۹۱ mg GAE/g بود. بخشی از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی زردچوبه را می‌توان به ترکیبات فنولی مرتبط دانست. پیک‌های cm^{-1} ۱۳۷۸ و ۱۳۰۸ حضور آلکان‌ها یا ارتعاش خمشی گروه CH_3 کورکومینوئیدها (کورکومین) را تائید کرد. می‌توان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیک اسانس زردجوبه را در ارتباط با این ترکیب دانست. در انتها پیشنهاد می‌گردد با توجه به پتانسیل بالای گیاه زردچوبه از اسانس این گیاه به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی به

1 Neutral red

جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنعت روغن‌های خوراکی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

آخوند، م.ر.، کاظم‌نژاد، ا.، حاجی‌زاده، ا.،، قنبری‌مطلق، ع.،، زالی، م. ۱۳۸۹. مقایسه عوامل موثر بر بقای بیماران مبتلا به سرطان کولون و رکتوم با استفاده از مدل ریسک‌های رقابتی .کومش. ۱۲ (۲) :۱۲۸-۱۱۹.

امیدی میرزائی، م.، حجتی، م.، علیزاده بهبهانی،ب.، نوشاد، م. ۱۳۹۹. تعیین ترکیبات شیمیایی، ویژگی‌های ضداکسایشی و فعالیت ضدمیکروبی اسانس دانه گشنیز بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا. پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۶ (۲) :۲۳۳-۲۲۱.

برزگر، ح.، علیزاده بهبهانی، ب. و مهرنیا، م.ا. ۱۳۹۸. شناسایی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس ریحان سبز و برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل بر تعدادی از ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی. مجله علوم و صنایع غذایی، ۹۰(۱۶)، ۱۲۵-۱۱۳.

برزگر، ح.، مهرنیا، م.ا. و علیزاده بهبهانی، ب. ۱۳۹۷. تعیین ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضدمیکروبی اسانس گلپر برفی بر میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت غذایی. فصلنامه میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی، ۴(۴)، ۱۵-۲۸.

تناور، ه.، برزگر،ح.، علیزاده بهبهانی، ب، مهرنیا،م. ا. ۱۳۹۹. اسانس پونه: ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و اثر سایتوتوکسیک آن بر رده سلولی HT29. پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۶(۵).

سلطانی‌پور، م.، رضایی، م.، مرادشاهی، ع. ۱۳۸۳. بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس گیاه مورخوش (*Zhumeria majdae Rech*. f. & *Wendelbo*)، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۰(۳)، ۲۷۷-۲۸۹.

سمیعی، ا.، طباطبایی یزدی، ف.، مظاهری طهرانی، م. ۱۳۹۷a. شناسایی ترکیبات شیمیایی و ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس زرد چوبه (*Curcuma longa*) بر برخی از باکتری های شاخص مسمومیت غذایی در شرایط آزمایشگاهی .علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۵ (۷۴) :۳۲۹-۳۲۱.

سمیعی، ا.، طباطبایی یزدی، ف.، مظاهری طهرانی، م. ۱۳۹۷b. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنولی، اثر ضد میکروبی و برهمکنش اسانس زردچوبه و ریحان علیه برخی از باکتری های بیماری زا .علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۵ (۷۴) :۱۰۷-۹۹.

صادقی، ا.، درگاهی، ع.، محمدی، ا.، اسدی، ف.، صحرایی، س. ۱۳۹۴. مروری بر تأثیر ضدمیکروبی اسانس‌ها. بهداشت مواد غذایی، ۵(۲)، ۲۶-۱.

طباطبایی یزدی،ف.، فلاح، ف.، علیزاده بهبهانی، ب.، وسیعی، ع.، مرتضوی، س.ع. ۱۳۹۸. شناسایی ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان فنل و ارزیابی اثر مهارکنندگی و کشندگی اسانس زنجبیل بر تعدادی از سویه‌های میکروبی بیماریزا در شرایط برون‌تنی .مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، ۱۳ (۳) :۶۲-۵۰.

فلاح حسینی، ح.، زحمتکش، م. و حقیقی،. م. ۱۳۸۸. مروری بر کاربرد گیاه زردچوبه (*Curcuma longa*) در طب سنتی و مدرن، فصلنامه گیاهان دارویی، ۱(۳۳): ۱- ۱۵.

قاضی زاده، ص.، ترتیبیان، ب.، قادری پاکدل، ف.۱۳۹۶. نقش ممانعتی هشت هفته تمرین شدت متوسط بر مقدار عوامل مستعد کننده به سرطان کولون (فاکتور رشد شبه انسولینی-۱ و پپتید ۳ متصل شونده به آن) در موش های صحرایی. مجله مطالعات علوم پزشکی، ۲۸ (۱۲) :۷۶۹-۷۵۹.

مزارعی، ا.، موسوی نیک، م.، فهمیده، ل. ۱۳۹۶. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی، فلاونوئیدی و فنلی عصاره های اتانولی، آبی، استونی و متانولی سیزده گیاه دارویی. یافته های نوین در علوم زیستی، ۴(۴)، ۳۰۹-۲۹۹.

نوشاد، م.، علیزاده بهبهانی، ب. ۱۳۹۷. شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی، پتانسیل آنتی اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی اسانس ترنج (Bergamot) بر تعدادی از میکروارگانیسم های عامل عفونت در شرایط برون‌تنی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ۲۶ (۶) : ۱۳۲-۱۲۲.

Alizadeh Behbahani, B., & Imani Fooladi, A. A. (2018). Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities allium essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 114, 299-303.

Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 13(1), 875-883.

Alafiatayo Akinola, A., Ahmad, S., & Maziah, M. (2014). Total antioxidant capacity, total phenolic compounds and the effects of solvent concentration on flavonoid content in Curcuma longa and Curcuma xanthorhhiza rhizomes. *Journal of Medicinal and* Aromatic Plants, 3(156), 2167-0412.1000156.

Araujo, L. A., Araujo, R. G., Gomes, F. O., Lemes, S. R., Almeida, L. M., Maia, L. J., Melo-reis, P. R. (2016). Physicochemical/photophysical characterization and angiogenic properties of curcuma longa essential oil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 88(3), 1889-1897.

Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2019). Quality retention and shelf life extension of fresh beef using lepidium sativum seed mucilage-based edible coating containing *heracleum lasiopetalum* essential oil: An experimental and modeling study. *Food Science and Biotechnology*, in press. https://doi.org/10.1007/s10068-019-00715-4.

Cao, A., Li, Q., Yin, P., Dong, Y., Shi, H., Wang, L., Wu, D. (2013). Curcumin induces apoptosis in human gastric carcinoma ags cells and colon carcinoma ht-29 cells through mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress. *Apoptosis*, 18(11), 1391-1402.

Chang C., Yang M., Wen H., Chern J. (2002). Estimation of total flavonoid content in Propolis by two complementary calorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*; 10: 178-18.

Chowdhury, H., Walia, S., & Saxena, V. S. (2000). Isolation, characterization and insect growth inhibitory activity of major turmeric constituents and their derivatives against Schistocerca gregaria (Forsk) and Dysdercus koenigii (Walk). Pest Management Science: *formerly Pesticide Science*, 56(12), 1086-1092.

Goel, A., Boland, C. R., & Chauhan, D. P. (2001). Specific inhibition of cyclooxygenase-2 (cox-2) expression by dietary curcumin in ht-29 human colon cancer cells. Cancer Letters, 172(2), 111-118.

Gursoy, N., Sarikurkcu, C., cengiz, M., & Solak, M. H. (2009). Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven morchell species. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2381-2388.

Karimi, N., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Mehramuz, B., & Kafil, H. S. (2018). Antioxidant, antimicrobial and physicochemical properties of turmeric extract-loaded nanostructured lipid carrier (NLC). Colloid and Interface Science *Communications*, 22, 18-24.

Khanam, S. (2018). Influence of operating parameters on supercritical fluid extraction of essential oil from turmeric root. Journal of Cleaner Production, 188, 816-824.

Kim, K.-C., & Lee, C. (2010). Curcumin induces downregulation of e2f4 expression and apoptotic cell death in hct116 human colon cancer cells; involvement of reactive oxygen species. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 14(6), 391-397.

Kumar, G. S., Nayaka, H., Dharmesh, S. M., & Salimath, P. (2006). Free and bound phenolic antioxidants in amla (*emblica officinalis*) and turmeric (*curcuma longa*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(5), 446-452.

Lee, K. H., Kim, B. S., Keum, K. S., Yu, H. H., Kim, Y. H., Chang, B. S., Choi, N. Y. (2011). Essential oil of curcuma longa inhibits streptococcus mutans biofilm formation. *Journal of Food Science*, 76(9), H226-H230.

Li, S., & Li, S. (2009). Antioxidant activities of essential oil of curcuma longa and curcuma wenyujin. International *Journal of Essential Oil Therapeutics*, 3, 31-34.

Maizura, M., Aminah, A., & Wan Aida, W. (2011). Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*polygonum minus*), ginger (*zingiber officinale*) and turmeric (*curcuma longa*) extract. *International Food Research Journal*, 18(2): 526-531.

Malek, S. N. A., Lee, G. S., Hong, S. L., Yaacob, H., Wahab, N. A., Faizal Weber, J.-F., & Shah, S. A. A. (2011). Phytochemical and cytotoxic investigations of curcuma mangga rhizomes. *Molecules*, 16(6), 4539-4548.

Nampoothiri, S. V., Lekshmi, P., Venugopalan, V., & Menon, A. N. (2012). Antidiabetic and antioxidant potentials of spent turmeric oleoresin, a by-product from curcumin production industry. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, S169-S172.

Naz, S., Ilyas, S., Parveen, Z., & Javed, S. (2010). Chemical analysis of essential oils from turmeric (*curcuma longa*) rhizome through gc-ms. *Asian Journal of Chemistry*, 22(4), 3153.

Negi, P., Jayaprakasha, G., Jagan Mohan Rao, L., & Sakariah, K. (1999). Antibacterial activity of turmeric oil: A byproduct from curcumin manufacture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4297-4300.

Pawar, H., Karde, M., Mundle, N., Jadhav, P., & Mehra, K. (2014). Phytochemical evaluation and curcumin content determination of turmeric rhizomes collected from Bhandara District of Maharashtra (India). *Medicinal Chemistry*, 4(8), 588-591.

Rouhollahi, E., Moghadamtousi, S. Z., Paydar, M., Fadaeinasab, M., Zahedifard, M., Hajrezaie, M., Awang, K. (2015). Inhibitory effect of curcuma purpurascens bi. Rhizome on ht-29 colon cancer cells through mitochondrial-dependent apoptosis pathway. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 1-12.

Sahu, R., & Saxena, J. (2013). Screening of total phenolic and flavonoid content in conventional and non-conventional species of curcuma. *Journal of Pharmacognosy and phytochemistry*, 2(1):176-179.

Singh, G., Kapoor, I., Singh, P., De Heluani, C. S., De Lampasona, M. P., & Catalan, C. A. (2010). Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (curcuma longa linn.). *Food and Chemical Toxicology*, 48(4), 1026-1031.

Singh, N., Shrivastav, A., & Sharma, R. K. (2009). Curcumin induces caspase and calpain-dependent apoptosis in ht29 human colon cancer cells. *Molecular Medicine Reports*, 2(4), 627-631.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Stanojević, J. S., Stanojević, L. P., Cvetković, D. J., & Danilović, B. R. (2015). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of the turmeric essential oil (*curcuma longa* l.). *Advanced Technologies*, 4(2), 19-25.

Yadav, D. K., Sharma, K., Dutta, A., Kundu, A., Awasthi, A., Goon, A., & Saha, S. (2017). Purity evaluation of curcuminoids in the turmeric extract obtained by accelerated solvent extraction. *Journal of AOAC International*, 100(3), 586-591.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 2, June. July. 2021, p. 261- 271

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۰ ص.۲۷۱-۲۶۱

Determination of the structure, chemical composition, antioxidant activity and the cytotoxic effect of Turmeric essential oil

B. Majdi[1], M. A. Mehrnia[*2], H. Barzegar[3], B. Alizadeh Behbahani[2]

Received: 2020.03.08
Accepted: 2020.05.10

Introduction: Antioxidants by Quenching free radicals and preventing lipid oxidation, retard spoilage, discoloration and rancidity of foods. Due to adverse effects of synthetic antioxidants such as carcinogenicity and liver injury, consumers' attention toward natural antioxidants are increasing. Turmeric (*Curcuma longa*) is a medicinal plant frequently used in food industry and pharmacology. In this research, chemical composition, structure and type of bond, antioxidant capacity, total phenol, flavonoid and cytotoxic effect of Turmeric essential oil (TEO) on colorectal cancer cells (HT29) were investigated.

Materials and methods: TEO was extracted using Clevenger apparatus by aqueous distillation method. To identify chemical composition, 1 µl essential oil was injected in gas chromatography-mass spectrometry and essential oil composition and quantity were determined by comparing with standards. Functional groups and qualitative identification of turmeric essential oil were done using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) in range of 500 – 4000 cm^{-1}. Antioxidant capacity of TEO was determined suing ABTS, DPPH and β-carotene/linoleic acid bleaching assay. Total phenol and flavonoid were measured by colorimetric methods. MTT test was used to find cytotoxic concentrations of TEO on colorectal cancer cell line (HT29).

Results and discussion: The 18 compounds identified in TEO accounted for 97.91% and the highest compound was turmerone by 40%. The other compounds were curlone, zingiberene and benzene with 34, 8.30 and 4.18% respectively. Infrared spectrum in range of 3600-3400 cm^{-1} (specially 3516 cm^{-1}) and peaks at 2930, 1621, 1515 and 1447 cm^{-1} were due to stretching vibration of O-H, C-H, C=O, C=C bonds of aromatic ring and aromatic groups of curcuminoids. 1515 cm^{-1} peak was due to stretching vibration of C=O bond of sesquiterpenes (turmerone). Observed peaks at 1378 and 1308 cm^{-1} confirmed the presence of alkanes or bending vibrations of CH_3 groups in curcuminoids (curcumin). Antioxidant potential of TEO according to DPPH and ABTS methods and β-carotene bleaching assay was 25.15, 93.90 and 72.76 %, respectively. Total phenol and flavonoid content of TEO were 38.91 mg GAE/g and 87.9 mg QE/g. The results showed that by increasing essential oil concentration from 3.125 to 200 mg/mL survival rate of HT29 changed from 66.76 to 9.88%.

Keywords: *Curcuma longa* essential oil, Gas chromatography-mass spectrometry, Fourier-transform infrared spectroscopy, *Antioxidant activity.*

1. M.Sc. student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
(* Corresponding author: Mehrnia@asnrukh.ac.ir)